

顎関節症の生化学的研究の最前線-顎関節滑液解析 の診断および治療への応用-

著者	高橋 哲
雑誌名	東北大学歯学雑誌
巻	20
号	2
ページ	59-74
発行年	2001-12
URL	http://hdl.handle.net/10097/31763

総 説

顎関節症の生化学的研究の最前線

—— 顎関節滑液解析の診断および治療への応用 ——

九州歯科大学口腔外科学第二講座

高 橋 哲

Current trends in biochemical research of temporomandibular disorders

—— Use of synovial fluid analysis for diagnosis and treatment ——

Tetsu Takahashi

Second Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Kyushu Dental College

Abstract: Synovial fluid (SF) analysis of the temporomandibular joint (TMJ) has revealed a variety of inflammatory mediators and components of the matrices of articular cartilage in the TMJ. We analyzed inflammatory cytokines and nitric oxide (NO) in SF from the TMJ. Cytokines such as interleukin 1 (IL-1) were frequently detected in SF from patients with temporomandibular disorders (TMD), but not in SF from asymptomatic controls. Nitric oxide was detected mainly in SF from the patients. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) was expressed in the synovium of the patients with TMD. These data suggest that IL-1 and NO may play a pathophysiologic role in certain types of TMD. Our data also suggest that biochemical analysis of the levels of these mediators may provide markers for the diagnosis, prognosis, and treatment of TMD.

Key words: synovial fluid analysis, temporomandibular joint, cytokine, interleukin 1, free radical, nitric oxide, temporomandibular disorders

はじめに

顎関節症は従来非炎症性疾患と定義されてきた^{1,2)}。しかし近年 MRI などの画像診断の急速な進歩³⁾、さらに顎関節など小関節への関節鏡の開発⁴⁾などにより、顎関節症のなかでも円板の位置異常による顎関節内障⁵⁾や、骨軟骨の破壊を伴う変形性顎関節症⁶⁾の病態形成に、種々の炎症反応、それに伴う免疫応答が他の関節と同様に起こっていることが明らかになってきた⁷⁾。本総説では、顎関節症、特に顎関節内障および変形性顎関節症の病態形成のメカニズムについての滑液解析による生化学的研究の最前線を概説し、顎関節症の病態を生物学的側面から考察する。

正常な顎関節の構造と機能

顎関節は他の関節同様滑膜性関節であり、骨端部を被う関節軟骨、連結・支持を司る関節包、関節の栄養・維持に必要不可欠な滑膜、運動の円滑化を担う関節円板よりなる。他の滑膜性軟骨が硝子軟骨であるのに対し、顎関節は定型的な硝子軟骨と異なり、むしろ線維軟骨に近いとされ⁸⁾、関節面線維層は I 型コラーゲンが主体をなし、軟骨層は II 型コラーゲンが主体をなしている⁶⁾。顎関節も他の関節同様関節軟骨の栄養は滑液を介しての拡散のみの経路で、純物理的な機構によって行われている⁹⁾。関節円板は緻密な膠原線維で構成されており、周辺部を除いて血管、神経を含まない¹⁰⁾。したがって関節円板の無血管領域では修復機構は認められない¹¹⁾。関節円板の役割としては、① 衝撃の吸

収, ② 骨関節表面の適合性の改善, ③ 複雑な運動の容易化, ④ 加重の分配, ⑤ 関節表面周囲の保護, ⑥ 潤滑液の分散, などが挙げられる¹²⁾。

顎関節滑膜は, 下顎頭軟骨面, 関節円板および下顎窩軟骨面を除く関節包の内面を被覆し, 1~3 層の表層細胞とその直下の血管に富む疎性結合組織とからなり, 基底膜を有していない。滑膜表層細胞は, ① 主として貪食作用を行うマクロファージに類似した A 型細胞と, ② 滑液成分を産生し, 線維芽細胞に類似した B 型細胞の 2 種類に大別される¹⁴⁾。

滑膜の機能としては, 滑液成分の産生, 関節腔内に生じた局所代謝物などの排除, 滑液の量や組成の制御, 血液-関節関門機能などが挙げられる¹⁵⁾。

顎関節滑液

滑液は血漿の限界濾過液とヒアルロン酸からなり, 関節軟骨および関節円板の栄養と, 関節の潤滑という 2 つの機能を有する。また滑液は関節内に生じた変化に対応して量的, 質的に変化をきたす¹⁶⁾。通常, 正常な顎関節の滑液量は平均 20 μ L (13-55 μ L) といわれ¹⁷⁾, 滑膜の選択的透過性によりタンパク濃度は血漿に比較して低くなっている。しかし滑膜炎などの炎症が起きると血管透過性の亢進により, タンパク濃度が上昇する¹⁶⁾。したがって関節疾患に伴う滑液の量的ないし質的变化を生化学的に検索することにより, 関節内病変が把握できる。

顎関節内障および変形性顎関節症の関節内病態

顎関節内障の中でもクローズドロックは, 復位不能な関節円板の前方転位により下顎頭の滑走障害と有痛性の開口障害を主症状とし, 難治性であることも少なくない。1975 年, 大西⁴⁾ によって関節鏡が顎関節に応用され, これら顎関節内障クローズドロックや変形性顎関節症患者の関節内病態の把握について, 著しい発展がもたらされた¹⁸⁻²⁰⁾。関節内病変として, ① 滑膜炎, ② 軟骨の退行性病変 (軟骨軟化症; chondromalasia), ③ 関節腔内の線維性癒着が挙げられる²¹⁻²³⁾。これらの病変はいずれも顎関節に対する機械的な過重負担が軟骨, 骨の変性と滑膜炎を惹起し成立すると考えられており, これらの病態形成には他の関節と同様に, 種々の炎症性メディエーターなどの関与が考えられる。

顎関節滑液解析の変遷

このように顎関節疾患のうち顎関節内障や変形性顎関節症では種々の炎症・免疫応答が起こっていることが予測される。整形外科領域では, 種々の関節疾患に応じた滑液が量的, 質的に変化することを応用し, 滑液中の成分の生化学的な解析によって, RA や OA の早期診断や, スクリーニング, あるいは患者の予後判定を行う目的で滑液解析が行われている^{24,25)}。そこで顎関節内障や変形性顎関節症の患者の病態を把握する目的で, 顎関節の滑液解析が行われてきた。顎関節滑液解析の歴史は, 1960 年に Toller²⁶⁾ が関節の潤滑と滑液の粘性の変化が顎関節の障害をもたらすと報告したのが最初とされる。1967 年, Schmid ら²⁷⁾ は, 顎関節滑液の構成について比較的詳細な検討をしている。本邦では, Shimizu²⁸⁾ が, 1970 年に滑液中の細胞の細胞学的な検討を行ったのが最初とされる。1980 年には, Yoshimura ら²⁹⁾ が顎関節滑液中の I-Naphthyl acetate esterase のアイソザイムの存在を確認している。しかしその後滑液解析はあまり普及しなかった。その理由として ① 顎関節が狭小であり, 分析を行うだけの量の検体が集まりにくい, ② 原液での滑液採取がむずかしく, 希釈法での採取しかおこなえず, 検出がむずかしい, ③ コントロールがとりにくい, などの欠点によるものであった。

1983 年, Kopp ら³⁰⁾ は, 顎関節症患者 31 名の顎関節滑液のタンパク濃度を測定し, さらに症例によりアルブミン, ハプトグロビン, トランスフェリン, 補体 C3, フィブリノーゲン, IgG, IgM などを検出した。7 名でタンパク濃度が高値を示し, これらの滑液中に炎症の存在することを初めて示した。

以来 1980 年代後半から, 顎関節の滑液解析は飛躍的に発展した。これらの背景には, サイトカインなど, 炎症性メディエーターの測定技術の進歩があることも見逃せない。さらに関節鏡所見や手術所見, MRI の画像診断の飛躍的な発展も挙げられる。また, 顎関節マニピュレーション³¹⁾ や関節洗浄療法³²⁾ などの治療がクローズドロック患者などに応用され, 治療中に関節洗浄液を回収できるようになったことも, 滑液解析が発展した理由のひとつであると思われる。

顎関節滑液の分析項目

顎関節疾患との関連において, 滑液解析の分析項目

として第1に、関節破壊、修復過程に伴ってみられる軟骨マトリックスマーカー、第2にマトリックス成分の組成の調節、分解に関与するサイトカイン、分解酵素など、関節炎に関するマーカーの2つに大別される。

1) 軟骨マトリックスマーカー

関節軟骨は軟骨マトリックスと軟骨細胞よりなり、マトリックスの主成分はコラーゲンとプロテオグリカンである。網目構造を有するコラーゲンネットワークの中に抱水能の高いプロテオグリカン含有し、軟骨に強靱性と固有の粘弾性を与えている。これらのマトリックスは、分解、合成が活発に行われており、それらの過程で関節液中に軟骨成分が遊離してくる。したがって、これら軟骨マトリックスの測定は軟骨破壊、修復のマーカーとなる。関節疾患に関与する軟骨マトリックスマーカーを表1に示す。これらの軟骨マトリックスマーカーのうち、顎関節で報告されているものは、グリコサミノグリカン成分、ケラタン硫酸、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸などが挙げられる。1989年 Smith ら³³⁾ は病的な顎関節滑液中にはグリコサミノグリカン (GAG) のフラグメントが増加していることを示した。Israel ら^{34,35)} は、ELISA 法を用い、関節鏡視所見で軟骨変性を認める関節では滑液中のケラタン硫酸濃度が上昇していることを示した。1997年 Okazaki ら³⁶⁾ は健常人と顎関節症患者の滑液中のコンドロイチン硫酸 (CS) の組成について、HPLC を用

いて解析を行い、顎関節症患者の CS の isomer の組成は健常人と異なることを示した。1998年 Shibata ら³⁷⁾ は、滑液中の CS の isomer の組成を HPLC で解析を行い、コンドロイチン 6 硫酸 (C6S) とコンドロイチン 4 硫酸 (C4S) の比が軟骨および滑膜のプロテオグリカンの代謝を反映するとした。また同年 Murakami ら³⁸⁾ は、クローズドロック患者の滑液中のヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸の異性体と関節鏡視所見とを比較検討し、C4S と C6S が顎関節の病変に関連すること、さらにヒアルロン酸に対する C4S と C6S の比が顎関節の病変に関連するとした。これらの報告から、顎関節疾患、特に顎関節内障クローズドロックなどの患者においては、軟骨の変性に伴い、これらの軟骨マトリックスが破壊ないし修復がおきており、プロテオグリカンなどのマーカーの測定は病変を反映する可能性があることが示唆された。

2) 関節炎マーカー

関節炎マーカーとして、顎関節を含む関節疾患で重要なマーカーを表2に示した。これらのマーカーの多くは炎症を惹起したり、調節したりする因子で、炎症性メディエーターともいわれる。これまで様々な炎症性メディエーターが炎症性関節疾患で重要な役割を担っていることが知られている。これらのマーカーの

表2. 関節炎マーカー

マーカー	顎関節での報告
1 アラキドン酸代謝産物	
・ Prostaglandin E ₂	○
・ Leukotriene B ₄	○
2 サイトカイン	
・ IL-1, 6, 8	○
・ TNF α	○
・ IFN γ	○
・ TGF β	○
3 蛋白分解酵素	
・ MMPs	○
・ Plasminogen Activator	○
4 ニューロペプチド	
・ Substance P, CGRP	○
5 フリーラジカル	
・ Super oxide anion	○
・ Nitric oxide	○

表1. 軟骨マトリックスマーカー

マーカー	顎関節での報告
1 プロテオグリカン成分	
・ コンドロイチン硫酸異性体 (CS)	○
・ ケラタン硫酸 (KS)	○
・ プロテオグリカンコア蛋白, リンク蛋白	
・ ヒアルロン酸結合領域	
2 コラーゲン成分	
・ II 型コラーゲン C-ペプチド (pCOL II-C)	
・ 分子間架橋 (ピリジノリン, デオキシピリジノリン)	
3 その他の軟骨マトリックス成分	
・ Cartilage oligomeric matrix protein (COMP)	○

*文献 106 より改変

*文献 106 より改変

うち、顎関節症での関与が示唆され、病変との関連について報告されているものは、① アラキドン酸代謝産物、② サイトカイン、③ タンパク分解酵素、④ ニューロペプチド、⑤ フリーラジカルなどである。次にそれぞれのマーカーについて概説する。

① アラキドン酸代謝産物

プロスタグランジン E_2 (Prostaglandin E_2 : PGE_2) は炎症反応の重要なメディエーターである、特に炎症性関節疾患において、強力な血管透過性亢進作用や血管新生能を有し、骨吸収にも重要な役割を果たす³⁹⁻⁴²⁾。また疼痛とも深く関係している⁴³⁾。Quinn ら⁴⁴⁾ は、顎関節症患者の滑液中の PGE_2 とロイコトリエン B_4 (LTB_4) 濃度を測定し顎関節鏡視所見、とくに滑膜炎の程度との間に明らかな関連が認められると報告した。Alstergren と Kopp⁴⁵⁾ は、顎関節症患者と健常人の顎関節滑液中と血中の PGE_2 の濃度を測定し、健常人の滑液中には PGE_2 は検出されないが、患者群の滑液中の 67% に PGE_2 が検出されたと報告した。さらに PGE_2 の誘導酵素であるシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) は滑膜炎を有する患者の滑膜組織中に検出される⁴⁶⁾ ことから、顎関節症患者の病変に重要な役割を持つことが示唆されている。

② サイトカイン

サイトカインは糖タンパクであり、特異的レセプターと結合することで、きわめて微量でその機能を発現し、同時に互いに相乗的、相加的に、ときに拮抗的に作用する⁴⁷⁾。炎症性関節疾患においては、炎症性サイトカインであるインターロイキン (IL) 1, IL-6, IL-8, 腫瘍壊死因子 ($TNF\alpha$)、インターフェロン γ ($IFN\gamma$)、などは滑膜炎、パニヌスの形成、軟骨マトリックスの破壊に重要な役割をもつと考えられている⁴⁸⁾。IL-1 は単球・マクロファージが産生する、サイトカインネットワークの中心になる重要なサイトカインである⁴⁹⁾。マクロファージ以外にも生体のさまざまな細胞から産生され、異物侵入や組織破壊に対してその情報を免疫系、中枢神経系、内分泌系、骨格系などに伝え、生体の恒常性維持に重要な役割を示す⁵⁰⁻⁵³⁾。滑膜細胞や軟骨細胞からも産生され、関節に対しては、Type II コラーゲンの合成を抑制する一方 Type I コラーゲンの合成を促進し、線維芽細胞の PGE_2 とコラゲナーゼの産生を促進する⁵⁴⁾。さらに他の炎症性サイトカインである IL-6, $TNF\alpha$, IL-8 の産生を促進する⁵⁰⁾。すなわち IL-1 は軟骨マトリックスの合成を抑制し、分解を促進する。Nouri ら⁵⁵⁾ は、慢性リウマチ (RA) 患者

の滑液中に IL-1 が存在することをみいだした。Sabis-ton ら⁵⁶⁾ は、膝 OA 患者の滑膜に含まれる軟骨破壊因子が IL-1 であることを示した。以来、IL-1 を始めとして、 $TNF\alpha$ ⁵⁷⁾, IL-6⁵⁸⁾, IL-8⁵⁹⁾, $IFN\gamma$ ⁵⁷⁾, 顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)⁶⁰⁾ などが 1980 年代に炎症性関節疾患患者の滑液中に存在することが次々に示され、様々な炎症性サイトカインが関節破壊に関与していることが明らかにされた。この背景には、1980 年代以降、これら極微量の滑液からその生物活性を検出できる ELISA や radioimmunoassay 法の開発・普及によるところが大きい。IL-1 と同様、 $TNF\alpha$ も主としてマクロファージから産生され、IL-1 と同様の作用をもつサイトカインであり、滑膜細胞の増殖、コラゲナーゼおよび PGE_2 の産生、軟骨のプロテオグリカンの合成抑制などに関与する⁶¹⁾。IL-6 は B 細胞増殖因子として発見され、CRP など急性期タンパクの誘導、T 細胞の活性化などの役割をもつ⁴⁸⁾。滑膜細胞や軟骨細胞では IL-1 や $TNF\alpha$ により誘導されて産生される⁵⁰⁾。IL-6 は IL-1 のプロテオグリカンの合成抑制を促進するとされる⁶²⁾。しかし一方では IL-6 はマトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinases, MMPs) の合成には影響を与えず、MMPs のインヒビターである、tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) の合成を促進する⁶³⁾。従って IL-6 は軟骨に対して防御的に働くという一面もある。これらのサイトカインは互いに絡み合って複雑なサイトカインネットワークを形成しているものと考えられる。近年、顎関節の滑液解析により、顎関節内障や変形性顎関節症の患者の滑液から、これらの炎症性サイトカインが高頻度に検出されることが明らかになり、病態との関連が注目されている。これらの炎症性サイトカインの顎関節滑液での報告は、1994 年、Shafer ら⁶⁴⁾ の $TNF\alpha$ が最初である。以後様々なサイトカインについて、臨床症状との関連が検討されている。われわれは⁶⁵⁾ 顎関節内障ならびに変形性顎関節症患者の滑液中の IL-1 β , $TNF\alpha$, IL-6, IL-8, インターフェロン (IFN) γ ($IFN\gamma$) を健常人と比較し、健常人ではいずれも検出限界であること、患者群ではいずれのサイトカインも検出されることを示した⁶⁵⁻⁶⁷⁾ (図 1)。Kubota ら⁶⁸⁾ はクローズドロック患者の滑液中の IL-1 濃度が健常人に比較して有意に上昇していること、IL-1 β 濃度は下顎頭の変形との間に関連が認められることを示した。さらに Alstergren ら⁶⁹⁾ は、同様に、IL-1 β が顎関節痛と、骨格性開咬との間に関連

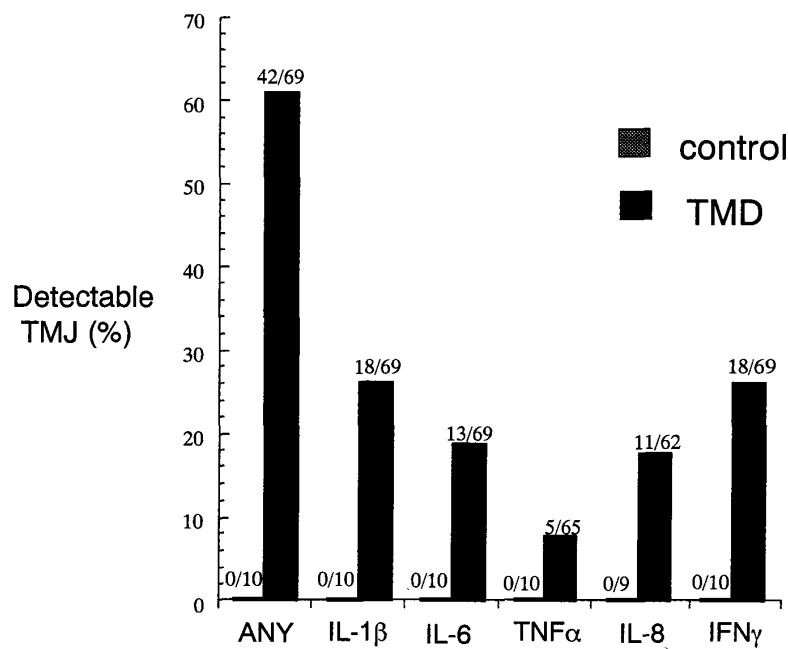


図1 顎関節滑液中の炎症性サイトカインの検出
それぞれのサイトカインが検出できた TMJ の割合を示した。

があるとした。われわれの結果でも、IL-1 β の検出と顎関節痛の間には関連があることがわかった⁶⁵⁾。さらに顎関節鏡視所見との比較において、IL-1 β の検出される関節は全例関節痛を有し、その多くは著明な滑膜炎を有し、軟骨の OA 様変化を伴っていることが示された⁷⁰⁾ (図 2)。これらの結果から顎関節内障や変形性顎関節症患者の顎関節局所において、IL-1 が関節破壊

や滑膜の炎症に関与し、臨床的には顎関節痛にも関連することが明らかとなった。Shafer らは TNF α が顎関節の痛みと関連があり、さらに顎関節鏡視下手術など、外科手術の予後との関連を示した。以来 TNF α については、Fu ら⁷¹⁾、Takahashi ら⁶⁵⁾、Sandler ら⁷²⁾、Nordahl ら⁷³⁾ の報告がある。Nordahl ら⁷³⁾ は、全身的に結合組織病変をもつ患者での開口時痛と、顎関節後方

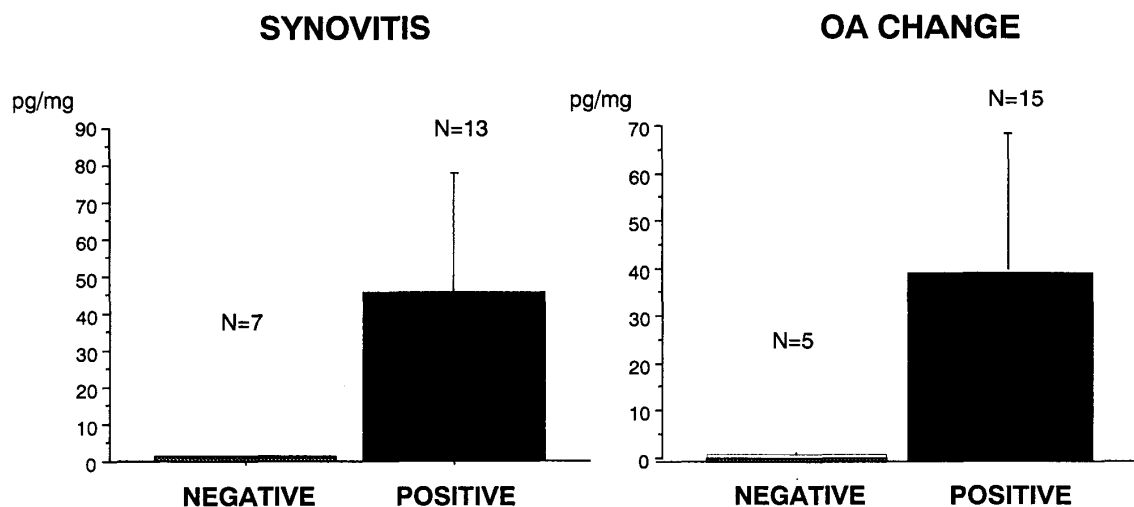


図2 顎関節滑液中の IL-1 β 濃度と滑膜炎、軟骨の OA 様変化の比較
顎関節鏡視所見での滑膜炎と軟骨の OA 様変化の有無と滑液中の IL-1 濃度 (滑液中のタンパク濃度 1 mg 中の値) の平均値を示した。

の痛みとの関連を示した。1995年, Fuら⁷⁴⁾は, bioassay法にてIL-6を測定し, X線上で, 急性期の下顎頭の骨変化が認められる患者の滑液中のIL-6濃度が高いことを示した。Kubotaら⁷⁵⁾も同様に, X線上での下顎頭のOA変化の有無とIL-6濃度との関連を示した。Sandlerら⁷²⁾は顎関節鏡視所見との比較検討で, 滑膜炎の程度とIL-6濃度の関連を示した。その他のサイトカインでは, IL-8, IFN γ は報告が少なく⁶⁵⁾, 臨床所見との関連については不明である。また最近Fangら⁷³⁾は抗炎症性サイトカインである, TGF β , IL-1レセプターアンタゴニスト(IL-1ra)が顎関節滑液中に検出していることを報告しているが, これらのサイトカインについても臨床所見との関連は不明である。

③ タンパク分解酵素

関節軟骨のマトリックスの破壊は, 主として中性領域で作用する中性プロテアーゼの働きによる。なかでもマトリックスメタロプロテアーゼ(matrix metalloproteinase: MMPs)は, プロテオグリカンや各種コラーゲンの分解活性を有する重要な酵素として知られている⁷⁶⁾。Kubotaら⁷⁵⁾はX線上でOA変化をもつ患者の滑液中のMMP-3活性が上昇していることを報告した。Zardenetaら⁷⁷⁾は, 顎関節滑液中にMMP-3と他のMMPs活性が認められることを示し, Kanayamaら⁷⁸⁾は活性型のMMP-1, MMP-3, MMP-9活性が顎関節のOA変化を有する患者で亢進していることを示した。IL-1はMMPの産生を誘導し, 軟骨マトリックスの分解と合成抑制を促進する。したがって, 顎関節滑液中のMMPsの存在は関節破壊の病態を反映していることが示唆される。

④ ニューロペプチド

Substance P (SP), calcitonin gene-related peptide (CGRP), ニューロキニンA(neurokinin A: NKA), ニューロペプチドY(neuropeptide Y: NPY)などのニューロペプチドは神経線維中に存在する液性因子であり, RAなどの炎症性関節炎において病態形成において重要な役割を担っているとされる⁷⁹⁾。顎関節滑液中にもこれらニューロペプチドの存在が確認されている^{79,80)}。

⑤ フリーラジカル

フリーラジカルは“負対電子を1つまたはそれ以上有する分子, 原子”と定義される⁸¹⁾。活性酸素やフリーラジカルは一般に不安定で反応性に富み, 時に生理的であるが, 時に生体に障害を与え, 生体にとってその重要性が注目されている⁸¹⁾。McCord⁸²⁾はRA患者の

滑液の粘性は低下しており, 同様の粘性の低下が滑液やヒアルロン酸溶液を活性酸素O₂で処理した時にみられることより, 活性酸素が炎症性関節疾患において重要な役割をもつことを示した。以来フリーラジカルは軟骨基質の破壊や滑液粘性の低下に重要な役割を持つことが明らかになりつつある⁸³⁾。Milamら⁸⁴⁾は変形性顎関節症の成因について, 顎関節における機械的負担荷重が, “Oxidative stress”として, 関節内の障害を与えるフリーラジカルの蓄積を促進し, その結果軟骨マトリックスの破壊につながるという仮説を提唱した。その1つのプロセスとして彼らは“虚血一再灌流現象(Hypoxia-reperfusion)”を挙げている。顎関節における“Hypoxia-reperfusion”とは, 咀嚼筋の異常な緊張によりブラキシズムやクレンチングが起きると, 顎関節に負担荷重がかかり, 顎関節内は一時的な低酸素・虚血状態になる。その後筋緊張が解けて, 再灌流がおきると, 活性酸素などのフリーラジカルが産生されるというものである⁸⁴⁾。Nitzanら⁸⁵⁾は, 安静時とクレンチング時の顎関節腔内圧を測定し, “Hypoxia-reperfusion”が顎関節で起きうることを示し, フリーラジカル産生の可能性を指摘した。変形性顎関節症の成因が“Oxidative stress”説ですべて説明しうるかどうかの検証は今後の研究に期待せねばならないが, 最近の顎関節滑液解析や臨床所見, 他関節での生化学的研究などから, 現在変形性顎関節症の病態の成因を説明する有力な説の1つであると思われる。

近年, 窒素酸化物の1つで血管弛緩物質であり⁸⁶⁾, 種々の生体反応に重要な役割を示す⁸⁷⁾フリーラジカルの1つ, 一酸化窒素(Nitric oxide, 以下NO)の関節疾患における役割が注目されている⁸⁸⁾。NOはRAやOA患者の膝などの滑液中や血清などに検出され⁸⁹⁾, 炎症性関節炎の滑膜細胞や軟骨細胞からは多量のNOが産生され⁹⁰⁾, 実験的関節モデルではNOのインヒビターにより滑膜炎と組織破壊が抑制される⁹¹⁾ことから, 炎症性関節疾患の滑膜炎や軟骨マトリックスの破壊に重要な役割を示すことが明らかになってきた。そこでわれわれは顎関節内障ならびに変形性顎関節症患者の滑液中のNO量を測定するため, nitrite量を測定し, 健康人に比較して顎関節症患者でnitrite量が有意に上昇していることをみだした⁹²⁾(図3)。特にOA患者ではその平均値が, Farrellら⁸⁹⁾の報告した膝OA患者のnitrite量と同等であった。また興味深いことに, 滑液中のIL-1濃度とNO濃度の間には強い正の相関が認められた^{93,94)}。次にわれわれは顎関節

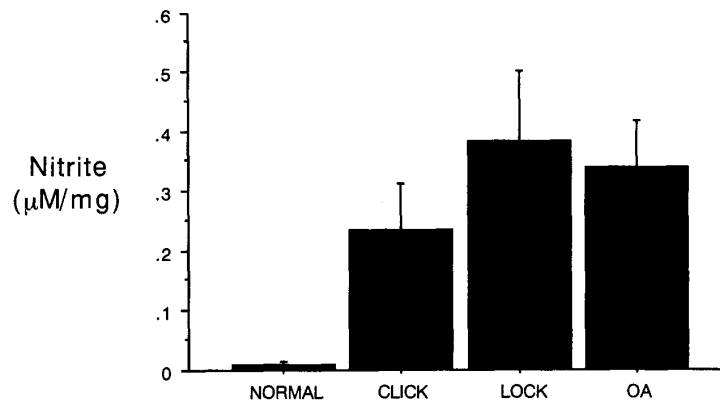


図3 顎関節滑液中の Nitric oxide 濃度
顎関節中の nitrite 量の平均値をタンパク濃度 1mg 中の値で示した。

鏡視所見および顎関節痛の有無と滑液中の NO 濃度について比較検討した⁹⁵⁾。その結果、顎関節痛を有する関節の NO 濃度は顎関節痛のない関節に比較して有意に高値を示した (図 4)。さらに関節鏡視所見との比較では、軟骨の OA 変化を示す関節では NO 濃度は有意に高値を示した (図 5)。また滑膜炎を有する関節では統計学的有意差はないものの、NO 濃度が高い傾向を示した (図 6)。これらの結果より、顎関節症患者の軟骨の OA 変化や滑膜炎などの病態形成に NO が重要な役割を担っていることが示唆された。さらに NO の産生に IL-1 β などの炎症性サイトカインが関与していることも示唆された。

NO は生体内では一酸化窒素合成酵素 (nitric oxide synthase: NOS) の働きで、L-アルギニンより合成さ

れる⁹⁶⁾。NOS には、構成型 (constitutive NOS: cNOS) と誘導型 (inducible NOS: iNOS) の 2 種類があり、炎症局所においては、NO は IL-1 などの炎症性サイトカインにより、iNOS の働きにより大量に産生されることが知られている⁹⁷⁾。前述のように IL-1 β は顎関節滑液中に検出されること、さらに顎関節滑液中の IL-1 β 濃度と NO 濃度は正の強い相関が認められることより、NO は顎関節の滑膜や軟骨組織において iNOS の働きにより産生されているものと考えられる。そこで顎関節滑膜での iNOS の発現を、免疫組織化学的によって検索した^{98,99)}。その結果、滑膜炎の無いコントロールの滑膜表層には iNOS の発現はみられなかったが、滑膜炎のある顎関節滑膜の表層には強い iNOS の発現が認められた (図 7)。iNOS の発現は

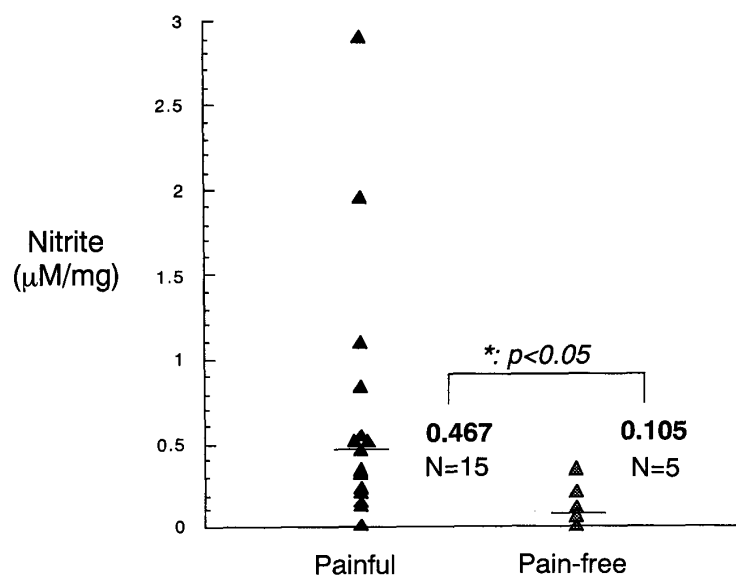


図4 顎関節滑液中の Nitric oxide 濃度と顎関節痛との関係

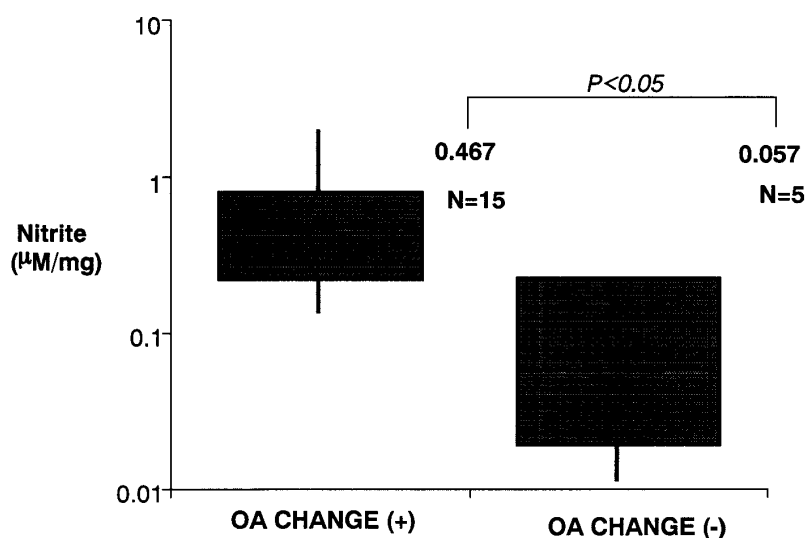


図5 顎関節滑液中の Nitric oxide 濃度と軟骨の OA 様変化との関係

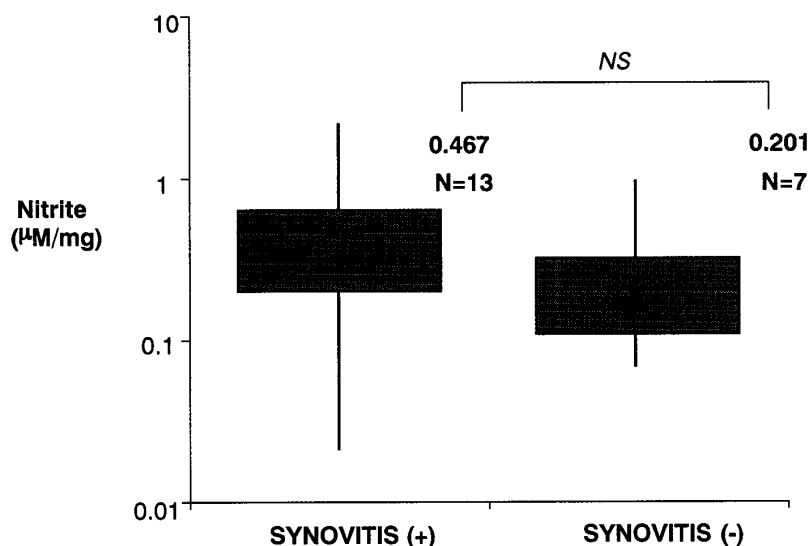


図6 顎関節滑液中の Nitric oxide 濃度と滑膜炎との関係

線維芽細胞様の細胞（おそらく滑膜 B 細胞）にも認められたが、マクロファージ様の滑膜 A 細胞で特に強く認められ、これらの細胞はまた CD68 抗原陽性であることが示された（未発表データ）。これらの結果より、少なくとも滑膜炎を有する顎関節滑膜においては iNOS の働きにより NO が産生されていることが示された。さらに興味深いことに Suzuki ら¹⁰⁰⁾ は、顎関節症患者の滑膜中での IL-1 β の発現部位も iNOS の発現とほぼ同様に滑膜表層細胞に認められることを報告している。したがって、NO の産生には関節局所で産生される IL-1 β が重要であることが免疫組織化学的にも示された。このように顎関節内障ならびに変形性顎

関節症患者の滑液中には他の炎症性関節炎同様に、IL-1 などの炎症性サイトカインを始め、アラキドン酸代謝産物、フリーラジカル、タンパク分解酵素が存在し、これらが複雑に作用して、顎関節の軟骨マトリックスの破壊、修復、滑膜炎などに関与していると考えられる（図 8）。

顎関節滑液解析の現状、問題点と展望

1) 顎関節滑液解析の現状と問題点

このように顎関節滑液解析によって、滑膜炎や軟骨マトリックスの破壊のメカニズムなどが明らかになっ

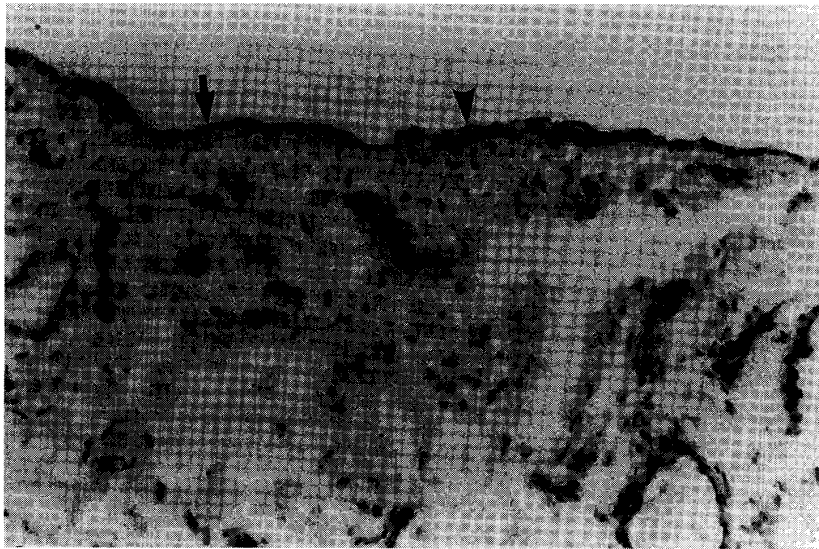


図7 顎関節滑膜での iNOS の発現
滑膜表層, 血管内皮細胞に iNOS の強い発現が認められる。滑膜表層ではマクロファージ様細胞(▶), 線維芽細胞様細胞 (→) のいずれにも iNOS の発現が認められる。(×100)

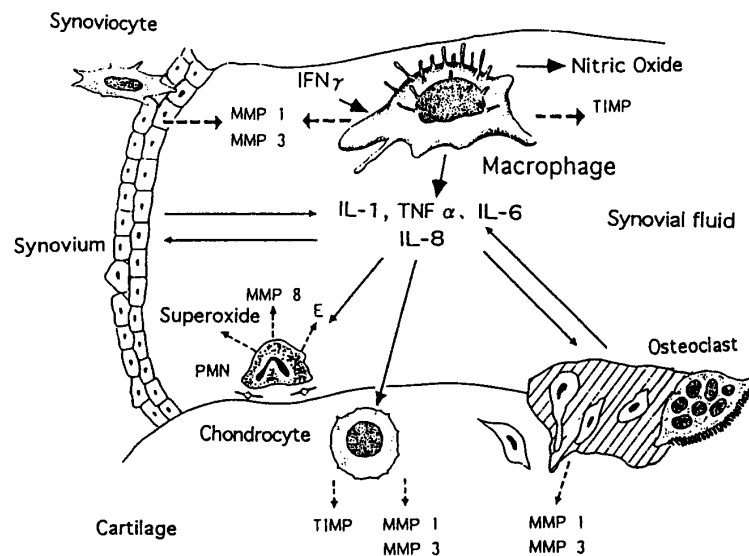


図8 顎関節病変におけるサイトカイン, フリーラジカル, 蛋白分解酵素の役割

てきた。滑液中にはさまざまな関節マーカーが検出され, IL-1 や PGE_2 , NO など, いくつかのマーカーでは臨床症状との関連が示されている。しかしながら他の多くの関節マーカーについてはその臨床的意義については依然不明である。またサイトカインとタンパク分解酵素, フリーラジカルなどの相互作用についても不明の点が多い。また他の関節と比較して, 顎関節症に特異的なマーカーも見つかっていない。さらに滑液解析には現在のところいくつかの問題点が指摘されている。第1に滑液採取方法である。滑液採取は滑液を直

接採取する原液採取法と, 生食などによる希釈回収法がある。顎関節は小関節であるため, 原液採取はきわめて困難であり, 多くは希釈回収法が用いられている。ここで問題は滑液がどのぐらい希釈されて回収されているか, 個々の検体を比較するのが極めて難しいことである。この方法の解決策としては, 外的・内的マーカーを用いて滑液濃度を補正する方法と, 滑液中のタンパク濃度による補正の2種類がある。前者は内的マーカーとして Aghabeigi ら¹⁷⁾ は Aspirin を, 外的マーカーとして, Alstergren ら¹⁰¹⁾ は VitaminB₁₂ を

用いた。しかしながら、これらのマーカーが検出すべきマーカーの測定系に影響を及ぼさないとは限らない。また滑液中のタンパク濃度による補正の場合、滑膜炎などの炎症の存在により、タンパク濃度そのものが上昇している¹⁰²⁾ため、比較が難しくなる可能性も否定できない。現在のところ簡便さ等からタンパク濃度による補正が一般的であるが、正確に希釈滑液からの炎症性メディエーター量を測定するためには、より簡便で確実な内的・外的マーカーの開発などが必要であると考えられる。次に解析結果の解釈についてである。これら炎症性メディエーターが滑液中に存在することが、生理的なことなのか、病的なことなのか、病的なことであればマトリックスの破壊を示しているのか、修復過程を示すのか、あるいはその両方かということである。これらの問題を解決するためにはいくつかの重要なサイトカイン、メディエーターを同時に測定して、その動態をみる必要があるだろう。

2) 顎関節滑液解析の展望

それでは顎関節滑液解析を通して顎関節症の診断と治療にどのような貢献が期待できるのであろうか？第1には、顎関節症の病態解明への更なる寄与である。第2に軟骨、関節炎のマーカーにより、病態の把握が可能となれば、外科的手術の適応や予後の診断にも役立つ。第3に Evidence Based Medicine (EBM) に基づく顎関節症の診療体系への確立の一助となりうる。第4に炎症性メディエーターを制御することにより、治療への応用が可能となる。顎関節内障ならびに変形性顎関節症の治療にパンピングマニピュレーションや関節洗浄療法がある。これらの方法の臨床効果の1つとして、関節腔内に過剰に存在する IL-1 を始めとする炎症性メディエーターを洗い流す作用が考えられる。また関節腔内へのステロイド剤やヒアルロン酸ナトリウムの注入¹⁰³⁾は、IL-1 の産生抑制^{53,104)}など、炎

症性メディエーターに対する抗炎症効果によるものとも考えられる。Lin ら¹⁰⁵⁾は、顎関節症患者に対し、関節腔内に活性酸素のスキャベンジャーである superoxide dismutase (SOD) を注入し、83% の患者で効果があったことを示した。したがって、炎症性メディエーターの制御は今後期待のできる治療になりうると考えられる。

おわりに

顎関節は小関節であり、滑液解析などの生化学的研究は技術的に困難を極める。それにもかかわらず、近年の顎関節の滑液解析は、顎関節症の病態解明に多大な貢献をしてきた。顎関節病変の詳細がさらに解明されることにより、顎関節症の診断、予後の判定、治療法の決定、さらに治療としてサイトカインやフリーラジカルの産生抑制の臨床応用が可能になるのもそう遠くはないものと期待される。

謝 辞

稿を終えるにあたり、総説をまとめる機会を当てえて下さった東北大学歯学会の皆様には感謝申し上げます。また本研究の遂行に協力いただいた鶴見大学歯学部口腔外科学第1講座助教授、近藤寿郎博士、塩野義製薬医科学研究所主任研究員、鈴木隆二博士、前田朋子博士、秋田大学医学部歯科口腔外科、福田雅幸博士、永井宏和博士、大谷真紀先生、関宏先生、大貫敬嘉先生、九州歯科大学口腔外科顎第2講座、高野裕史先生、船木勝介先生に深謝いたします。なお本研究の一部は平成7年度文部省科学研究補助金基盤研究C(2) (課題番号：07838005)、平成10年度文部省科学研究補助金基盤研究C(2) (課題番号：10671863) の交付を受けたことを付記します。

内容要旨：従来非炎症性疾患と考えられてきた顎関節症は近年、MRIなどの画像解析、関節鏡の診断への応用などから、他の関節同様に、滑膜炎、軟骨変性など、さまざまな免疫・炎症反応が関与していることが明らかになってきた。顎関節の滑液解析により、各種炎症性メディエーターや軟骨マトリックス成分などが検出され、これらの滑液成分の量的、質的な解析により、滑膜炎、軟骨変性などの関節病変を診断することが可能になった。われわれは顎関節滑液解析で各種炎症性サイトカインの検出を試み、顎関節内障および変形性顎関節症患者の滑液中には、インターロイキン1 (interleukin-1: IL-1)などの炎症性サイトカインが高頻度に検出されること、健常人においてはいずれも検出されないことを明らかにした。またフリーラジカルの1つ、一酸化窒素 (nitric oxide: NO) が滑液中に高頻度に検出されることも示した。さらに IL-1 や NO が顎関節痛や滑膜炎、軟骨の退行性変性に関連することを明らかにし

た。また誘導型一酸化窒素合成酵素 (inducible nitric oxide synthase: iNOS) が、患者の滑膜表層に発現していることを免疫組織化学的に明らかにした。これらの結果から顎関節滑液解析による生化学的研究は、顎関節症の診断、予後の判定、治療法の選択などに有用であることが示唆された。また今後は炎症性メディエーターを選択的に制御することが、治療としても期待できることが示唆された。

文 献

- 1) Schwartz, L.: Disorders of the temporomandibular joint, diagnosis, management, relation to occlusion of teeth. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1959, pp. 1-471.
- 2) Laskin, D.M.: Etiology of the pain-dysfunction syndrome. JADA. **79**: 147-153, 1973
- 3) Larheim, T.A.: Current trends in temporomandibular imaging. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. **80**: 555-576, 1995
- 4) 大西正俊: 顎関節の関節鏡的検査法. 口病誌 **42**: 207-213, 1975
- 5) Farrar, W.B. and McCarty, W.L.: A clinical outline of temporomandibular joint diagnosis and treatment. John Wright PSG inc., Boston, 1982, pp. 1-182.
- 6) Dijkgraaf, L.C., de Bont, L.G., Boering, G., and Liem, R.S.: The structure, biochemistry, and metabolism of osteoarthritic cartilage. A review of the literature. J Oral Maxillofac Surg. **53**: 1182-1192, 1995
- 7) Gynther, G.W., Holmlund, A.B. and Reinholt, F. P.: Synovitis in internal derangement of temporomandibular joint: correlation between arthroscopic and histologic findings. J Oral Maxillofac Surg. **52**: 913-917, 1994.
- 8) De Bont, L., Liem, R. and Boering, G.: Ultrastructure of the articular cartilage of the temporomandibular condyle: Aging and degeneration. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. **60**: 631-641, 1985.
- 9) Henderson, B. and Edwards, J.C.W.: The synovial lining in health and disease. Chapman and Hall Ltd., London, 1987, pp. 41-74.
- 10) Fujita, S. and Hoshino, K.: Histochemical and immunohistochemical studies on the articular disk of the temporomandibular joint in rats. Acta Anat. **134**: 26-30, 1989.
- 11) 三沢常美: サル顎関節円板における実験的微小損傷の治癒経過に関する組織学的観察. 口病誌 **49**: 211-238, 1982.
- 12) Williams, P.L., Warwick, R., Dyson, M. et al.: Grays Anatomy, 37ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 1989, pp. 459-544.
- 13) Henderson, B. and Edwards, J.C.W.: The synovial lining in health and disease. Chapman and Hall Ltd., London, 1987, pp. 17-40.
- 14) Saotome K., Hoshino, T. and Miyaji, N: Electron microscopic study of synovial lining cells in the developmental process. J Jap Orthop Ass. **54**: 71-79, 1980.
- 15) Barland, P., Smith, C. and Hamerman, D.: Localization of hyaluronic acid in synovial cells by radioautography. J Cell Biol. **37**: 13-26, 1968.
- 16) Israel, H.A.: Synovial fluid analysis. Oral Maxillofac Surg Clin Nor Amer. **1**: 85-92, 1989.
- 17) Aghabeigi, B., Henderson, B., Hopper, C. and Harris, M.: Temporomandibular joint synovial fluid analysis. Br J Oral Maxillofac Surg. **31**: 15-20, 1993.
- 18) McCain, J.P., Sanders, B., Koslin, M.G., Quinn, J.D., Peters, P.B. and Indresano, T.: Temporomandibular joint arthroscopy: a 6-year multicenter retrospective study of 4,831 joints. J. Oral. Maxillofac. Surg. **50**: 926-930, 1992.
- 19) Sanders, B.: Arthroscopic surgery of the temporomandibular joint: treatment of internal derangement with persistent closed lock. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. **62**: 361-372, 1986.
- 20) 高橋 哲, 熊谷正浩, 千葉雅俊, 山口 泰, 越後成志, 手島貞一: 顎関節内障クローズドロック症例に対する顎関節鏡の使用経験. 東北大学歯誌 **12**: 69-78, 1993.
- 21) Kaminishi, R. and Davis, C.L.: Temporomandibular joint arthroscopic observations of superior space adhesions. Oral Maxillofac Surg Clin Nor Amer. **1**: 103-109, 1989.
- 22) Quinn, J.H.: Pathologies of temporomandibular joint chondromalacia and arthralgia.

- Oral Maxillofac Surg Clin Nor Amer. **1** : 47-57, 1989.
- 23) Murakami, K-I., Segami, N., Fujimura, K. and Iizuka, T.: Correlation between pain and synovitis in patients with internal derangement of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg.* **49** : 1159-1161, 1991.
 - 24) Blake, C.G. and White, T.: Synovial fluid analysis an aid to diagnosis and management in rheumatic diseases. *Pract Med.* **223** : 101, 1979.
 - 25) Gysen, P., Malaise, M., Gasper, S. and Franchimont, P.: Measurement of proteoglycans, elastase, collagenase and protein in synovial fluid in inflammatory and degenerative arthropathies. *Clin Rheumatol.* **4** : 39-50, 1985.
 - 26) Toller, P.A.: The synovial apparatus and temporomandibular joint function. *BDJ* **21** : 355-361, 1961.
 - 27) Schmid, F.R. and Ogata, R.I.: The composition and examination of synovial fluid. *J Pros Dent.* **18** : 449-457, 1967.
 - 28) Shimizu, M.: Cytological examination of the temporomandibular joint fluid. *Kokubyo Gakkaï Zasshi.* **37** : 245, 1970.
 - 29) Yoshimura, Y., Takada, K.: I-Naphthyl acetate esterase isoenzymes in synovial fluids and radiography of temporomandibular and knee joints. *Int Oral Maxillofac Surg.* **9** : 243-252, 1980.
 - 30) Kopp, S., Wennenberg, B., Clemmenson, E.: Clinical, microscopical, and biochemical investigation of synovial fluid from temporomandibular joints. *Scand J Dent Res.* **91** : 33-41, 1983.
 - 31) Totsuka, Y., Nakamura, T., Fukuda, H., Sawada, A., Uchiyama, Y. and Kawasaki, T.: Treatment of closed lock by mandibular manipulation assisted by hydraulic pressure in the upper cavity of the temporomandibular joint. *Oral Maxillofac Surg Nor Amer.* **1** : 111-122, 1989.
 - 32) Nitzan, D.W., Dolwick, M.F. and Martinez, G. A.: Temporomandibular joint arthrocentesis: a simplified treatment for severe, limited mouth opening. *J. Oral Maxillofac Surg.* **49** : 1163-1167, 1991.
 - 33) Smith, A.J., Basu, M.K., Speculand, B., Kassem, M.A. and Lloyd, J.M.: Synovial fluid glycosaminoglycan (acid mucopolysaccharide) analysis in assessment of temporomandibular joint dysfunction. A pilot study. *Br J Oral Maxillofac Surg.* **27** : 853-861, 1989.
 - 34) Israel, H.A., Saed-Najad, F. and Ratcliffe, A.: Early diagnosis of osteoarthritis of the temporomandibular joint: correlation between arthroscopic diagnosis and keratan sulfate levels in the synovial fluid. *J Oral Maxillofac Surg.* **49** : 708-711, 1991.
 - 35) Israel, H.A., Diamond, B.E., Saed-Najad, F. and Ratcliffe, A.: Correlation between arthroscopic diagnosis of osteoarthritis and synovitis of the human temporomandibular joint and keratan sulfate levels in the synovial fluid. *J Oral Maxillofac Surg.* **55** : 210-217, 1997.
 - 36) Okazaki, J., Kakudo, K., Kamada, A., Utoh, E., Gonda, Y., Shirasu, R. and Sasaki, T.: Chondroitin sulfate isomers in synovial fluid of healthy and diseased human temporomandibular joints. *Eur J Oral Sci.* **105** : 440-443, 1997.
 - 37) Shibata, T., Murakami, K-I., Kubota, E. and Maeda, H.: Glycosaminoglycan components in temporomandibular joint synovial fluid as markers of joint pathology. *J Oral Maxillofac Surg.* **56** : 209-213, 1998.
 - 38) Murakami, K-I., Shibata, T., Kubota, E. and Maeda, H.: Intra-articular levels of prostaglandin E₂, hyaluronic acid, and chondroitin-4 and -6 sulfates in temporomandibular joint synovial fluid of patients with internal derangement. *J Oral Maxillofac Surg.* **56** : 199-203, 1998.
 - 39) Robinson, D.R., Tashjian, A.H. and Levine, L.: Prostaglandin stimulated bone resorption by rheumatoid synovia. *J Clin Invest.* **56** : 1181, 1975.
 - 40) Ben-Av, P., Crofford, L.J., Wilder, R.L. and Hla, T.: Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and interleukin-1: a potential mechanism for inflammatory angiogenesis.

- FEBS Lett. **372**: 83-87, 1995.
- 41) Kawaguchi, H., Raisz, L.G., Voznesensky, O.S., Alander, C.B., Hakeda, Y. and Pilbeam, C.C.: Regulation of the two prostaglandin G/H synthases by parathyroid hormone, interleukin-1, cortisol and prostaglandin E₂ in cultured neonatal mouse calvariae. *Endocrinology*. **135**: 1157-1164, 1994.
- 42) Pilbeam, C.C., Raisz, L.G., Voznesensky, O., Alander, C.B., Delman, B.N. and Kawaguchi, H.: Autoregulation of inducible prostaglandin G/H synthase in osteoblastic cells by prostaglandins. *J Bone Miner Res*. **10**: 406-414, 1995.
- 43) Creamer, P.: Osteoarthritis pain and its treatment. *Curr Opin Rheumatol*. **12**: 450-455, 2000.
- 44) Quinn, J.H. and Bazan, N.G.: Identification of prostaglandin E₂ and Leukotriene B₄ in the synovial fluid of painful, dysfunctional temporomandibular joints. *J Oral Maxillofac Surg*. **48**: 968-971, 1990.
- 45) Alstergren, P. and Kopp, S.: Prostaglandin E₂ in temporomandibular joint synovial fluid and its relation to pain and inflammatory disorders. *J Oral Maxillofac Surg*. **58**: 180-186, 2000.
- 46) Quinn, J.H., Kent, J.H., Moise, A. and Lukiw, W.J.: Cyclooxygenase-2 in synovial tissue and fluid of dysfunctional temporomandibular joints with internal derangement. *J Oral Maxillofac Surg*. **58**: 1229-1232, 2000.
- 47) Whiteside, T.L.: Cytokine measurements and interpretation of cytokine assays in human disease. *J Clin Immunol*. **14**: 327-339, 1994.
- 48) Arend, W.P. and Dayer, J-M: Cytokines and cytokine inhibitors or antagonists in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. **33**: 305-315, 1990.
- 49) Oppenheim, J.J., Stadler, B.M., Siraganian, R. P., Mage, M. and Mathieson, B.: Lymphokines: their role in lymphocyte responses. Properties of interleukin 1. *Fed Proc*. **41**: 257-262, 1982.
- 50) Dinarello, C.A.: Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* **772**: 1627-1652, 1991.
- 51) 高橋 哲, 鈴木隆二, 熊谷勝男: インターロイキン 1 と免疫系. *日本臨床* **45**: 978-987, 1987.
- 52) 高橋 哲: 免疫調節, 炎症作用因子としてのインターロイキン 1 (IL-1) の測定法ならびにその応用に関する研究. *日口外誌* **33**: 297-308, 1987.
- 53) 熊谷勝男, 高橋 哲: サイトカインとステロイド. *MEBIO* **4**: 343-353, 1987.
- 54) Dayer, J-M., de Rochemonteix, B., Demczuk, S. and Dinarello, C.A.: Human recombinant interleukin 1 stimulates collagenase and prostaglandin E₂ production by human synovial cells. *J Clin Invest*. **77**: 645-648, 1986.
- 55) Nouri, A.M., Panayi, G.S. and Goodman, S.M.: Cytokines and the chronic inflammation of rheumatic disease. I. The presence of interleukin-1 in synovial fluids. *Clin Exp Immunol*. **55**: 295-302, 1984.
- 56) Sabiston, C.P. and Adams, M.E.: Production of catabolin by synovium from an experimental model of osteoarthritis. *J Orthop Res*. **7**: 519-529, 1989.
- 57) Hopkins, S.J., Meager, A.: Cytokines in synovial fluid: II. The presence of tumor necrosis factor and interferon. *Clin Exp Immunol*. **73**: 88-92, 1988.
- 58) Houssiau, F.A., Devogelaer, J.P., Van Damme, J., de Deuxchaisnes, C.N. and Van Snick, J.: Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum*. **31**: 784-788, 1988.
- 59) Brennan, F.M., Zachariae, C.O., Chantry, D., Larsen, C.G., Turner, M. and Maini, R.N.: Detection of interleukin 8 biological activity in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis and production of interleukin 8 mRNA by isolated synovial cells. *Eur J Immunol*. **20**: 2141-2144, 1990.
- 60) Xu, W.D., Firestein, G.S., Taetle, R., Kaushansky, K. and Zvaifler, N.J.: Cytokines in chronic inflammatory arthritis. II. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in rheumatoid synovial effusions. *J Clin Invest*. **83**: 876-882, 1989.
- 61) Saklatvala, J.: Tumor necrosis factor alpha stimulates resorption and inhibits synthesis of proteoglycan in cartilage. *Nature* **322**: 547-549, 1986.

- 62) Van de Loo, F.A.J., Joosten, L.A.B., Van Lent, P.L.E.M., Arntz, O.J. and Van den Berg, W.B.: Role of interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-6 in cartilage proteoglycan metabolism and destruction. *Arthritis Rheum.* **38**: 164-172, 1995.
- 63) Pelletier, J-P., Roughley, P., McCollum, R. and Martel-Pelletier, J.: Cytokines and inflammation in cartilage degeneration. *Rheumatic Disease Clin Nor Amer.* **19**: 545-568, 1993.
- 64) Shafer, D.M., Assael, L., White, L.B. and Rosomando, E.F.: Tumor necrosis factor-alpha as a biochemical marker of pain and outcome in temporomandibular joint with internal derangements. *J Oral Maxillofac Surg.* **52**: 786-791, 1994.
- 65) Takahashi, T., Kondoh, T., Fukuda, M., Yamazaki, Y., Toyosaki, T. and Suzuki, R.: Proinflammatory cytokines detectable in synovial fluids from patients with temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **85**: 135-141, 1998.
- 66) 高橋 哲: 顎関節滑液中の各種炎症性サイトカイン活性とその臨床的意義. *日顎誌* **9**: 218-219, 1997.
- 67) 高橋 哲: サイトカインの遺伝子解析による顎関節内障の病態解明に関する研究. 文部省科学技術研究費補助金基盤研究 (C) 研究成果報告書 1998.
- 68) Kubota, E., Imamura, H., Kubota, T., Shibata, T. and Murakami, K.: Interleukin 1 beta and stromelysin (MMP3) activity of synovial fluid as possible markers of osteoarthritis in the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg.* **55**: 20-27, 1997.
- 69) Alstergren, P., Ernberg, M., Kvarnstrom, M. and Kopp, S.: Interleukin-1 beta in synovial fluid from the arthritic temporomandibular joint and its relation to pain, mobility, and anterior open bite. *J Oral Maxillofac Surg.* **56**: 1059-1065, 1998.
- 70) 高橋 哲, 大谷真紀, 福田雅幸, 近藤寿郎: 顎関節鏡視診断と顎関節滑液中の炎症性メディエーターの比較検討. *関節鏡* **25**: 127-131, 2000.
- 71) Fu, K.Y., Ma, X.C. and Zhang, Z.K. and Chen, W.: Tumor necrosis factor in synovial fluid of patients with temporomandibular disorders. *J Oral Maxillofac Surg.* **53**: 424-426, 1995.
- 72) Sandler, N.A., Buckley, M.J., Cillo, J.E. and Braun, T.W.: Correlation of inflammatory cytokines with arthroscopic findings in patients with temporomandibular joint internal derangements. *J Oral Maxillofac Surg.* **56**: 534-543, 1998.
- 73) Nordahl, S., Alstergren, P. and Kopp, S.: Tumor necrosis factor-alpha in synovial fluid and plasma from patients with chronic connective tissue disease and its relation to temporomandibular joint pain. *J Oral Maxillofac Surg.* **58**: 525-530, 2000.
- 74) Fu, K., Ma, X., Zhang, Z., Pang, X. and Chen, W.: Interleukin-6 in synovial fluid and HLA-DR expression in synovium from patients with temporomandibular disorders. *J Orolfac Pain.* **9**: 131-137, 1995.
- 75) Kubota, E., Kubota, T., Matumoto, J., Shibata, T. and Murakami, K-I.: Synovial fluid cytokines and proteinases as markers of temporomandibular joint disease. *J Oral Maxillofac Surg.* **56**: 192-198, 1998.
- 76) Birkedal-Hansen, H., Moore, W.G., Bodden, M. K., Windsor, L.J., Birkedal-Hansen, B., DeCarlo, A. and Engler, J.A.: Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* **4**: 197-250, 1993.
- 77) Zardeneta, G., Milam, S.B., Lee, T. and Schmitz, J.P.: Detection and preliminary characterization of matrix metalloproteinase activity in temporomandibular joint lavage fluid. *Int J Oral Maxillofac Surg.* **27**: 397-403, 1998.
- 78) Kanayama, M., Kuboki, T., Kojima, T., Fujisawa, T., Hattori, T., Takigawa, M. and Yamashita, A.: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids of patients with temporomandibular joint osteoarthritis. *J Orolfac Pain.* **14**: 20-30, 2000.
- 79) Appelgren, A., Appelgren, B., Kopp, S., Lundberg, T. and Theodorsson, E.: Neuropeptides in the arthritic TMJ and symptoms and signs from the stomatognathic system with special consideration to rheumatoid arthritis. *J Orolfac Pain.* **9**: 215-225, 1995.

- 80) Holmlund, A., Ekblom, A., Hansson, P., Lind, J., Lundberg, T. and Theodorsson, E.: Concentrations of neuropeptides substance P, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide in synovial fluid of the human temporomandibular joint. A correlation with symptoms, signs and arthroscopic findings. *Int J Oral Maxillofac. Surg.* **20**: 228-231, 1991.
- 81) 二木鋭雄, 野口範子: 活性酸素・フリーラジカルとはどのようなものか? 近藤元治編: 最新医学からのアプローチ4 フリーラジカル. メディカルビュー社, 東京, 1993, pp 22-26.
- 82) McCord, J.M.: Free radicals and inflammation. *Science* **185**: 529-531, 1974.
- 83) Halliwell, B.: Oxygen radicals, nitric oxide and human inflammatory joint disease. *Ann Rheum Disease.* **54**: 505-510, 1995.
- 84) Milam, S.B. and Schmitz, J.P.: Molecular biology of temporomandibular joint disorders: proposed mechanisms of disease. *J Oral Maxillofac Surg.* **53**: 1443-1454, 1995.
- 85) Nitzan, D.W.: Intra-articular pressure in the functioning human TMJ and its alteration by uniform elevation of the occlusal plane. *J Oral Maxillofac Surg.* **52**: 671-679, 1994.
- 86) Ignarro, L.J., Byrns, R.E., Buga, G.M. and Wood, K.S.: Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties. *Circ Res.* **61**: 866-879, 1987.
- 87) Moncada, S., Palmer, R.M.J. and Higgs, A.E.: Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev.* **43**: 109-142, 1991.
- 88) Stefanovic-Racic, M., Stadler, J. and Evans, C. H.: Nitric oxide and arthritis. *Arthritis Rheum.* **36**: 1036-1044, 1993.
- 89) Farrell, A.J., Blake, D.R., Palmer, R.M. and Moncada, S.: Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* **51**: 1219-1222, 1992.
- 90) Sakurai, H., Kohsaka, H., Liu, M-F., Higashiyama, H., Hirata, Y., Kanno, K., Saito, I. and Miyasaka, N.: Nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in inflammatory arthritides. *J Clin Invest.* **96**: 2357-2363, 1995.
- 91) McCartney-Francis, N., Allen, J.B., Mizel D.E., Albina, J.E., Xie, Q.W., Nathan, C.F. and Wahl, S.M.: Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Exp Med.* **178**: 749-754, 1993.
- 92) Takahashi, T., Kondoh, T., Kamei, K., Seki, H., Fukuda, M. and Yamazaki, Y.: Elevated levels of nitric oxide in synovial fluid from patients with temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **82**: 505-509, 1996.
- 93) Takahashi, T., Kondoh, T., Kamei, K., Seki, H., Fukuda, M. and Yamazaki, Y.: Nitric oxide production in the lesions of temporomandibular disorders and gender differences in nitric oxide production. Letters to the editor. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **84**: 330-331, 1997.
- 94) 高橋 哲, 福田雅幸, 永井宏和, 高野裕史, 本間英孝, 大谷真紀: 顎関節の滑液解析: 顎関節症患者からの Nitric Oxide とインターロイキン 1β の検出. *東北大学歯誌.* **17**: 92-99, 1998.
- 95) Takahashi, T., Kondoh, T., Ohtani, M., Homma, H. and Fukuda, M.: Association between arthroscopic diagnosis of temporomandibular joint osteoarthritis and synovial fluid nitric oxide levels. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **88**: 129-136, 1999.
- 96) Nathan, C. and Xie, Q-W.: Nitric oxide synthase: roles, tolls, controls. *Cell.* **78**: 915-918, 1994.
- 97) Nathan, C. and Xie, Q-W.: Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem.* **269**: 13725-13728, 1994.
- 98) Homma, H., Takahashi, T., Seki, H., Ohtani, M., Kondoh, T. and Fukuda, M.: Immunohistochemical localization of inducible nitric oxide synthase in synovial tissue of human temporomandibular joints with internal derangement. *Arch Oral Biol.* **46**: 93-97, 2001.
- 99) Takahashi, T.: Nitric oxide production and

- inducible nitric oxide synthase expression in temporomandibular disorders. *Bull Kanagawa Dent. Col.* **28**: 127-132, 2000.
- 100) Suzuki, T., Segami, N., Kaneyama, K., Nishimura, M. and Nojima, T.: Specific expression of interleukin-1 beta in temporomandibular internal derangement: correlation with clinical findings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **88**: 413-417, 1999.
- 101) Alstergren, P., Appelgren, A., Appelgren, B., Kopp, S., Lundberg, T. and Theodorsson, E.: Determination of temporomandibular joint fluid concentrations using vitamin B₁₂ as an internal standard. *Eur J Oral Sci.* **103**: 214-218, 1995.
- 102) Takahashi, T., Nagai, H., Seki, H. and Fukuda, M.: Relationship between joint effusion, joint pain, and protein levels in joint lavage fluid of patients with internal derangement and osteoarthritis of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac. Surg.* **57**: 1187-1193, 1999.
- 103) Kopp, S., Carlsson, G.E., Haraldson, T. and Wennenberg, B.: Long-term effect of intra-articular injections of hyaluronate and corticosteroid on temporomandibular joint arthritis. *J Oral Maxillofac Surg.* **45**: 929-935, 1987.
- 104) 高橋 哲, 鈴木隆二, 熊谷勝男: Lobenzarit disodium, CCA のマクロファージ機能 Ia 抗原とインターロイキン 1 産生に対する働き (2) マウス腹腔マクロファージに対する作用. *臨床免疫* **19**: 354-360, 1987.
- 105) Lin, Y., Pape, H.D., and Friedrich, R.: Use of superoxide dismutase (SOD) in patients with temporomandibular joint dysfunction-a preliminary study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* **23**: 428-429, 1994.
- 106) 岩田 久: 関節疾患の生化学的診断と関節マーカー. 岩田 久, 新名正由編: 関節マーカー. メディカルビュー社, 東京, 1997, pp. XX-XXX.